

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SEMBUKAN (*Paederia foetida*)
TERHADAP *Vibrio cholerae***

**THE INHIBITORY TEST OF SEMBUKAN LEAF (*Paederia foetida*)
EXTRACT AGAINST THE GROWTH OF *Vibrio cholerae***

¹Adelya Fer Hidayat, ²Agus Selamat Duniaji*, ²Ni Made Indri Hapsari Arihantana

¹Mahasiswa Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan,

Fakultas Teknologi Pertanian, Unud

²Dosen Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Unud
Kampus Bukit Jimbaran, Badung-Bali

ABSTRACT

Sembukan leaf (*Paederia foetida*) is one of a tropical Asian plant that contains bioactive compounds and often used as functional foods. The aim of this research was to determine the concentration of flavonoid compounds sembukun leaf (*Paederia foetida*) as well as the concentration of inhibitory against the growth of *Vibrio cholerae*. This study uses an experimental design with 5 kinds concentrations : 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%, with three replications. The analysis were repeated 3 times resulting in 15 experimental units. The data were presented in descriptive statistic in the form of tables and figures. The results showed that the sembukun leaf extract contained flavonoid compounds of 1.18%. The extract concentration of 80% exerted the highest inhibitory activity against *V. cholerae* classified as strong with a diameter zone inhibition of 19.60 mm. The sembukun leaf has percentage inhibition in the range of 15.36% - 64.86% with bacteriostatic category.

Keywords: *paederia foetida*, *flavonoid*, *inhibitory*, *vibrio cholerae*

PENDAHULUAN

Penelitian tentang tumbuhan kini telah banyak berkembang terutama dalam aktivitas biologis sebagai antioksidan dan antibakteri. Penelitian ini menjadi perhatian yang menarik dalam upaya penemuan senyawa baru yang bermanfaat bagi kesehatan dan manfaatnya dalam bidang pangan. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan oleh sebagian masyarakat sebagai makanan yang memiliki khasiat adalah daun sembukun (*Paederia foetida*). Daun sembukun merupakan salah satu bagian dari tanaman sembukun yang mengandung senyawa bioaktif.

Sembukan (*Paederia foetida*) atau yang sering disebut dengan daun kentut merupakan salah satu jenis pangan

fungsional. Daun sembukun banyak dimanfaatkan oleh masyarakat daerah Jawa Timur untuk diolah menjadi makanan (pepes), lalapan, serta dapat dimanfaatkan sebagai obat diare, mengatasi maag, detoksifikasi (penawar racun), meningkatkan sel darah putih, obat cacing, pereda kejang, dan lain-lain (Nurchayanti dan Wandra, 2012). Hal ini dikarenakan daun sembukun memiliki senyawa bioaktif seperti flavonoid, terpenoid, paedolone, β -sitosterol, friedelin, campesterol, metil merkaptan dan senyawa aktif lainnya (Patel, 2017).

Anita *et al.*, (2014) menyatakan bahwa senyawa alkaloid, flavonoid, dan polifenol dapat berperan sebagai

*Korespondensi Penulis:

E-mail: selametduniaji@unud.ac.id

antimikroba. Senyawa bioaktif tersebut didapatkan dengan cara melakukan ekstraksi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan metode maserasi yang merupakan salah satu metode yang paling efektif digunakan. Pelarut yang dapat digunakan untuk ekstraksi daun sembukun adalah etanol. Senyawa yang bersifat polar akan memudahkan penyerapan zat pada pelarut yang bersifat polar.

Vibrio cholerae adalah bakteri gram negatif berbentuk basil (batang) bengkok, bersifat aerob dan motil, serta mempunyai satu flagel kutub. *Vibrio cholerae* merupakan salah satu mikroba penyebab penyakit yang sering ditemukan pada makanan, biasanya *Vibrio cholerae* mencemari makanan yang berasal dari laut salah satunya pada kerang-kerangan. Bila bakteri ini mencemari makanan dan dikonsumsi dalam jumlah 10^2 - 10^4 sel/gram, maka dapat menyebabkan penyakit kolera. Penghambatan ekstrak daun sembukun telah dilakukan oleh Uddin *et al.*, (2007) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun sembukun dapat menghambat *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, dan *Escherichia coli*. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini adalah metode difusi sumur dengan mengukur zona bening penghambatan pertumbuhan bakteri (Hermawan, 2007) dan metode kontak dengan menghitung jumlah kematian bakteri setelah diberi sejumlah zat antibakteri (Baron *et al.*, 1992).

Berdasarkan data diatas maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui ekstrak daun sembukun (*Paederia foetida*) untuk menghambat *Vibrio cholerae* menggunakan metode difusi sumur dan metode kontak.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Analisis Pangan, Sudirman dan UPT Laboratorium Terpadu Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran. Pelaksanaan penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2019 sampai dengan September 2019.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sembukun yang diperoleh dari Desa Baturiti, bakteri *Vibrio cholerae* yang diperoleh dari Bali *Seafood Inspection Laboratory* Sanur, Bali, etanol 96%, aquades, LB (*Lactose Broth*), NA (*Nutrient Agar*), TCBS (*Thiosulfat-sitrat-garam empedu-sukrosa agar*) (alkohol 95%, NaNO_2 , AlCl_3 , NaOH , dan metanol).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, evaporator, *water bath*, spektrofotometer *UV Vis* (biochrom), autoklaf, batang bengkok, timbangan analitik, mikropipet, *freezer*, inkubator (Mammert), tip, *laminar flow cabinet* (Kojair), bunsen, *magnetic stirrer*, tabung durham, kertas label, *vortex*, korek api, mikroskop, cawan petri (Pyrex), jarum

ose, tabung reaksi (Pyrex), rak tabung reaksi, gelas beker (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), jangka sorong, tabung *effendorf*, tissue, plastik HDPE (*High density polyethylene*), kertas saring, dan *aluminium foil* (Klin Park).

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan perlakuan konsentrasi ekstrak daun sembuk (*Paederia foetida*), yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Perlakuan ini diulang 3 kali. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis deskriptif.

Pelaksanaan Penelitian

Tahap penelitian meliputi beberapa tahapan yaitu persiapan sampel, pembuatan ekstrak, uji kadar flavonoid, uji konfirmasi dan uji aktivitas antibakteri.

1. Tahap Persiapan Sampel

Persiapan sampel meliputi persiapan alat dan bahan, pada daun sembuk yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau tua, selanjutnya dilakukan pengecilan ukuran sebesar 0,1 cm kemudian dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50°C hingga daun sembuk kering dan dapat diremas. Daun sembuk yang telah kering dihaluskan dengan blender dan diayak dengan ayakan 60 mesh hingga daun sembuk menjadi bubuk halus

2. Tahap Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun sembuk dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Bubuk daun sembuk diambil

sebanyak 100 gram lalu dimasukkan ke dalam etanol sebanyak 1 liter (1:10) dan didiamkan selama 72 jam. Setelah itu filtrat disaring menggunakan kertas saring sehingga didapatkan filtratnya kemudian dievaporasi pada suhu 40°C sampai tidak ada pelarut yang menetes lagi (Selawa *et al.*, 2013 yang dimodifikasi).

3. Pengujian Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Sembukan

Pengujian kadar flavonoid dilakukan hanya pada ekstrak daun sembuk yaitu dianalisis dengan metode kalorimetri menurut Xu and Chang, 2007. Sebanyak 0,01 g sampel dilarutkan dalam 5 mL metanol, diambil 200 µL lalu direaksikan dengan 2,5 mL aquades dan 0,15 mL NaNO₂ 5% kemudian divorteks dan didiamkan selama 5 menit. Sebanyak 0,3 mL AlCl₃ ditambahkan ke dalam larutan, kemudian didiamkan kembali selama 5 menit. Larutan direaksikan dengan 1 mL NaOH kemudian diencerkan dengan aquades hingga volume 5 mL lalu divorteks dan disentrifuse selama 5 menit, didiamkan selama 30 menit. Diukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 510 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

4. Uji Konfirmasi

Isolat *Vibrio cholerae* yang sudah disegarkan kemudian digores pada media TCBSA kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Diambil satu koloni tunggal dan kemudian dimasukkan kedalam LB dan diinkubasi selama 24 jam

pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, dilakukan pewarnaan gram dan dilihat bentuk sel melalui mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Selanjutnya dilakukan uji katalase dengan memberikan H₂O₂ sebanyak 2 - 3 tetes dan diamati terbentuknya gas (Juniarthati, 2011).

5. Pengujian Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Difusi Sumur

Sebanyak 100 µL *V. cholerae* disebar dalam media NA yang telah dipersiapkan. Media didiamkan ±15 menit kemudian dilubangi dengan tabung durham lalu diisi ±20 µL ekstrak etanol daun sembukan sesuai dengan perlakuan. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C lalu zona penghambatan diukur dengan jangka sorong sebanyak empat kali di tempat yang berbeda dan hasilnya dirata-ratakan kemudian dikurangi dengan diameter sumur (mm).

6. Pengujian Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Kontak

Hasil penyegaran bakteri yang ditandai dengan adanya kekeruhan pada media LB dipipet 0,1 ml bakteri ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 ml ekstrak. Masing – masing tabung reaksi diinkubasi dengan perlakuan waktu inkubasi 24 jam. Setelah waktu inkubasi tercapai maka sebanyak 0,1 ml ditanam dalam media NA (*Nutrient Agar*) dengan metode sebar kemudian diinkubasi selama 24 jam. Analisis hasil penghambatan dilakukan dengan menghitung indeks pertumbuhan relative ($\log N_t/\log N_0$)

(Tanzila, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

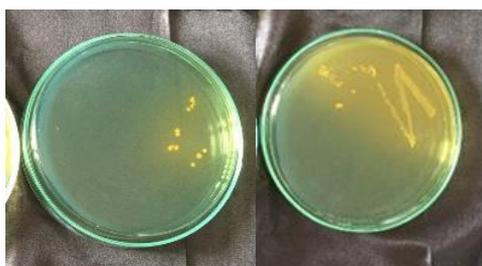
Uji Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Sembukan

Pengujian senyawa flavonoid ekstrak daun sembukan dilakukan secara kuantitatif. Kadar senyawa flavonoid yang didapat pada ekstrak daun sembukan sebesar 1,18% dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pada penelitian Ekawati *et al.*,(2017) Identifikasi senyawa flavonoid dalam ekstrak daun sembukan telah dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan hasil (+) positif mengandung senyawa flavonoid.

Etanol merupakan salah satu pelarut yang bersifat polar, menurut Moein dan Mahmood (2010), pelarut yang bersifat polar mampu melarutkan fenol lebih baik, dimana turunan fenol tertinggi adalah flavonoid. Kemungkinan tingkat kepolaran flavonoid dengan kepolaran etanol sama. Pada umumnya pelarut yang banyak digunakan adalah etanol karena etanol mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak bahan lebih banyak dibandingkan jenis pelarut lain. Sejalan dengan pendapat Sudarmadji (2003) bahwa etanol dapat mengekstrak senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lainnya.

Uji Konfirmasi *Vibrio cholerae*

Pengujian konfirmasi pada *Vibrio cholerae* meliputi bentuk koloni, warna koloni, pewarnaan gram, pengamatan bentuk sel dan pengujian katalase. Bentuk koloni *V. cholerae* adalah bulat. Menurut Khariri (2013) *V. cholerae* memiliki morfologi koloni yang besar dengan diameter < 3 mm, bulat, permukaan yang halus, agak datar, bagian tengah buram dan bagian pinggir terang, berwarna kuning pada media TCBSA. Pada warna koloni *V. cholerae* akan mengubah media selektif TCBSA yang berwarna hijau menjadi warna kuning. Hal ini sesuai dengan Widyastana dan Yogi (2015) bahwa pada sampel yang positif tercemar *V. cholerae* menunjukkan hasil koloni berwarna kuning pada media TCBS Agar. Pengamatan warna dan bentuk koloni dapat dilihat pada Gambar 1.

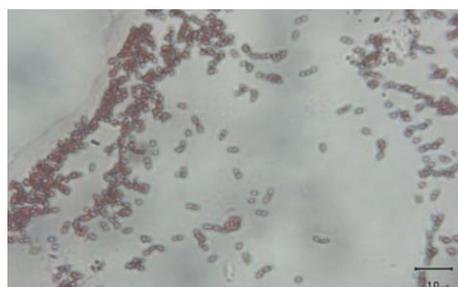


Gambar 1. Bentuk dan warna koloni *V. cholerae* pada TCBS Agar

Hasil pengamatan secara mikroskopik menunjukkan Pada pewarnaan gram menunjukkan pembentukan warna menjadi warna merah setelah ditetesi safranin. Hal ini menunjukkan bahwa *Vibrio cholerae*

merupakan bakteri gram negatif, sesuai dengan Karmana (2008) yang menyatakan bahwa karena telah kehilangan warna ungu, bakteri Gram negatif akan berikatan dengan safranin dan berwarna merah.

Bentuk sel pada *Vibrio cholerae* menunjukkan bentuk basil (batang) pendek yang agak bengkok. Menurut Amelia (2005) *Vibrio cholerae* merupakan bakteri gram negatif dengan ukuran panjang 2-4 μm dan berbentuk batang bengkok seperti koma. Hasil pengamatan pewarnaan gram dan bentuk sel *V. cholerae* dengan menggunakan mikroskop pembesaran 200x dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi *V. cholerae*

Uji katalase dilakukan sebagai salah satu dari sifat uji konfirmasi. Uji positif ditandai dengan adanya pembentukan gelembung gas. Pada koloni awal dari kultur *V. cholerae* yang telah ditumbuhkan pada media LB, menunjukkan hasil positif (terbentuknya gelembung gas). Hal ini sesuai dengan Herwandi *et al.*, (2019) bahwa *V. cholerae* menunjukkan hasil positif pada pengujian katalase.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sembukan (*Paedria foetida*) Terhadap Pertumbuhan *V. cholerae* dengan Metode Difusi Sumur

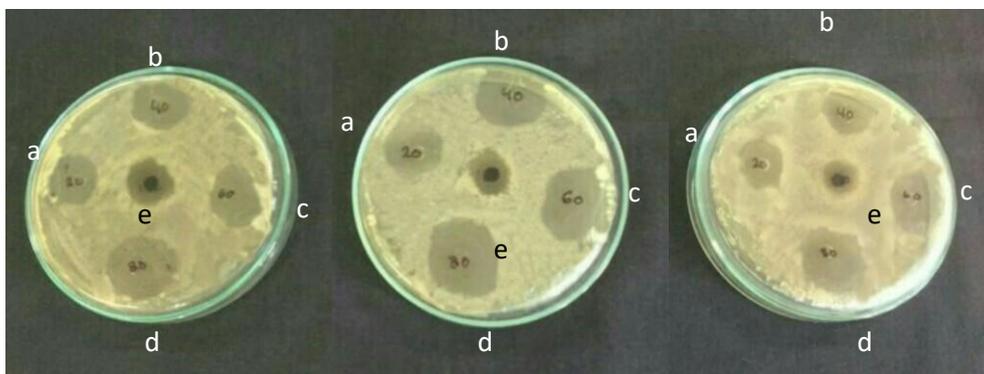
Tabel 1. Penghambatan ekstrak daun sembukan terhadap *V. cholerae*

Konsentrasi	Rata-Rata Penghambatan (mm)
20%	15,36
40%	17,13
60%	18,33
80%	19,60
100%	14,46

Menurut Davis and Stout, kategori daya hambat pada diameter penghambatan dibagi menjadi empat kategori, yaitu <5 mm lemah, 5-10 mm sedang, 10-20 mm kuat, dan >20 mm sangat kuat. Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui rata-rata penghambatan ekstrak daun sembukan terhadap pertumbuhan *V. cholerae*, dimana ekstrak daun sembukan sudah mampu menghambat pertumbuhan *V. cholerae* dengan kategori kuat dari konsentrasi terendah hingga tertinggi

dengan rata-rata diameter penghambatan 14,46 mm – 19,60 mm.

Menurut Maleki *et al.*, (2008), konsentrasi ekstrak yang terlalu pekat menyebabkan ekstrak sulit berdifusi secara maksimal ke dalam medium yang mengandung inokulum. Rata-rata diameter penghambatan dengan kategori kuat dipengaruhi oleh kandungan flavonoid yang terdapat pada daun sembukan sebesar 1,18%. Senyawa flavonoid berperan sebagai antibakteri sejalan dengan Anita *et al.*, (2014) yang menyatakan senyawa alkaloid, flavonoid, dan polifenol dapat berperan sebagai antimikroba. Senyawa antibakteri yang dimiliki ekstrak daun sembukan dapat melakukan penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen sehingga dapat merusak permeabilitas dinding sel bakteri (Ramadhan *et al.*, 2015) Gambar zona hambat ekstrak daun sembukan terhadap *Vibrio cholerae* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Zona hambat ekstrak daun sembukan terhadap *Vibrio cholerae* (a:20%, b:40%, c:60%, d:80%, e: 100%)

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sembukan (*Paederia foetida*) Terhadap Pertumbuhan *Vibrio cholerae* dengan Metode Kontak

Tabel 2. Penghambatan Ekstrak Daun Sembukan Terhadap *V. cholerae* Dengan Metode Kontak

Konsentrasi	Jumlah bakteri sebelum dikontakkan (Cfu/ml)	Jumlah bakteri sesudah dikontakkan (Cfu/ml)	Penurunan jumlah <i>V. cholerae</i> (Cfu/ml)	Persentase kematian (%)
20%	1,48 x 10 ⁵	1,20 x 10 ⁵	0,28 x 10 ⁵	18,91
40%	1,48 x 10 ⁵	0,97 x 10 ⁵	0,51 x 10 ⁵	34,23
60%	1,48 x 10 ⁵	0,71 x 10 ⁵	0,77 x 10 ⁵	52,02
80%	1,48 x 10 ⁵	0,52 x 10 ⁵	0,96 x 10 ⁵	64,86
100%	1,48 x 10 ⁵	1,25 x 10 ⁵	0,23 x 10 ⁵	15,36

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan persentase kematian *V. cholerae* tertinggi sebesar 64,86% pada konsentrasi 80%, persentase kematian *V. cholerae* terendah sebesar 15,36% pada konsentrasi 100%. Total *V. cholerae* yang digunakan pada penelitian ini ada 1,48 x 10⁵ CFU/ml. Pada konsentrasi 100% penurunan jumlah *V. cholerae* terjadi karena konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi mengakibatkan terjadinya kejenuhan sehingga menyebabkan senyawa-senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak tidak terlarut dengan sempurna (Maleki *et al.*, 2008). Hal ini yang menyebabkan pada konsentrasi tertinggi 100% mengalami sedikit penurunan pada jumlah *V. cholerae* setelah dikontakkan. Brooks *et al.*, (2013) menyatakan bahwa aktivitas antibakteri dipengaruhi beberapa faktor yaitu konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat.

Menurut Baron *et al.*, (1992), jika kematian bakteri uji minimal 99,99%, maka pada konsentrasi tersebut antibakteri dikatakan bersifat bakterisidal (membunuh bakteri). Sebaliknya, jika kematian kurang dari 99,99%, maka antibakteri dikatakan bersifat bakteristatik (menghambat pertumbuhan bakteri). Dilihat dari persentase kematian, ekstrak daun sembukan memiliki daya penghambatan kurang dari 99,99%. Pada penelitian ini ekstrak daun sembukan bersifat bakteristatik karena memiliki penghambatan kurang dari 99,99%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Ekstrak daun sembukan (*Paederia foetida*) mengandung total flavonoid sebesar 1,18%
2. Konsentrasi optimum 80% untuk menghambat pertumbuhan *V. cholerae* adalah pada dengan

diameter penghambatan 19,6 mm dengan kategori kuat.

- Konsentrasi ekstrak daun sembung 80% membentuk efek bakteristatik tertinggi sebesar 64,86%.

Saran

Perlu dilakukan uji kuantitatif senyawa fitokimia lain pada ekstrak daun sembung (*Paederia foetida*) dan uji daya hambat dengan bakteri yang lain

DAFTAR PUSTAKA

- Amanah, N. 2011. Identifikasi dan karakterisasi substrat antimikroba dari bakteri asam laktat kandidat probiotik yang diisolasi dari dadih dan yoghurt. Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor
- Amelia, S. 2005. *Vibrio cholerae*. Departemen Mikrobiologi. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Anita, A., S. Khotimah, dan A. H. Yanti. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu air (*Dendrothoe pentandra* L. Miq) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*. Skripsi. Universitas Tanjungpura. Pontianak
- Atikah, N. 2013. Aktivitas antimikroba ekstrak herba kemangi (*Ocimum americanum* L) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Baron, E.J., L.R Peterson, dan S.M. Finegold. 1992. Diagnostic Microbiology. 9th Ed. Baile & Scott's. St. Louis
- Brooks, G.F., K. Carroll., J.S Butel., dan Jawetz, Melnick. 2013. Adelberg's Medical Microbiology. Ed ke-26. Philadelphia: McGraw-Hill Company Inc.
- Davis, W.W., dan T.R. Stout. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay, appl. Microbiol. 4 (22), 666-670
- Djajadisastra, A.N. 2007. Penapisan komponen antibakteri dan uji toksisitas dari spons perairan Taka Bonerate Sulawesi Selatan. Skripsi. Bogor. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Institut Pertanian Bogor
- Ekawati, A.M., I.W Suirta dan S.R Santi. 2017. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid pada daun sembung (*Paederia foetida*) serta uji aktivitasnya terhadap antioksidan. Skripsi. Universitas Udayana. Bali
- Farouque, S. M., M. J. Albert., dan J. J. Mekalanos. 2000. Epidemiology, Genetiks and Ecology of Toxigenic *Vibrio cholerae*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 62 (4) :1301-1314
- Hermawan, A. 2007. Pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. Skripsi. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Herwandi., Mahyarudin., dan Effiana. 2019. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol *annona muricata* terhadap *Vibrio cholerae*. Skripsi. SUniversitas Tanjungpura. Pontianak
- Juniarhati, P. E. 2011. Skrining bakteri asam laktat isolat susu sapi Bali penghasil bakteriosin penghambat

- bakteri patogen *Escherichia coli* Penyebab Diare Akut. Skripsi. Jurusan Farmasi. Universitas Udayana. Bali
- Maleki, S., S.M, Seyyenejad, dan H, Motamedi. 2008. antibacterial activity of the aluid of iranian torilis leptophylla against some clinical pathogen. Pakistan Journal of Biological Science. Vol.11(9), 1286-1289
- Mardigan, M. T., Martinko, J.M, dan Parker, J. 2000. Biology of Microorganisms. 8th edition. Pearson Prentice Hall. USA.
- Misna., D, Khusnul. 2016. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L. terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Galenika Journal of Pharmacy. Vol. 2 (2): 138 – 144.
- Moein S., dan Mahmood RM. 2010. Relationship between antioxidant properties and phenolics in *Zhumeria majdae*. Journal of Medicinal Plants Research (7): 517-521
- Nurchayanti, A.D.R dan Wandra, J. 2012. Sembukan kurang sedap namun berkhasiat hebat. Bios : Salatiga
- Oman, K. 2008. Biologi. Jakarta: PT Grafindo Media Pratama (halaman : 56)
- Patel D.K. 2017. Paederia Foetida Linn.: A Potential climbing medicinal herb in central india. international journal of environmental sciences & natural resources. Vol: 6(5):01-07
- Prayoga, D. 2013. Perbandingan efek ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan metode difusi disk dan sumuran terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*. Skripsi Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta
- Ramadhan, N.S., R. Rasyid., E. Sy. 2015. Daya hambat ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) yang diambil di batusangkar terhadap pertumbuhan *Vibrio cholerae* secara In Vitro. Jurnal Kesehatan Andalas. Fakultas Kedokteran. Universitas Andalas. Padang. Vol.4(1)
- Sudarmadji, S. 2003. Analisa bahan makanan dan pertanian. Edisi ke2.Liberty.Yogyakarta.Vol:III
- Sunatmo, T. I. 2007. Eksperimen Mikrobiologi Dalam Laboratorium. Penerbit Ardy Agency. Bogor.
- Selawa, W., M,R,J. Runtuwene, dan G. Citraningtyas. 2013. Flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong (*Andredera Cordifulic* Ten Steenis.) FMIPA. Skripsi. Universitas Samratulangi. Manado
- Tanzila, A., P.A, Sandhi, dan N.N Puspawati 2016. Kemampuan daya hambat ekstrak daun pegagan (*Cantella asiatica* L.)Urban terhadap pertumbuhan *Escherchia coli* ATCC 8739. Skripsi. Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan. Universitas Udayana. Bali
- Uddin, B., Nahar, T., Khalil, M.I dan Hossain, S 2007. In vitro antibacterial activity of the ethanol extract of *paederia foetida* (Rubbiccae) leaves. *Bangladesh Journal Life Science*. Vol.19.141-143
- Widyastana, dan I.W Yogi. 2015. Keberadaan bakteri patogen *Vibrio cholerae* pada beberapa hasil perikanan yang dijual di pasar tradisional kota Denpasar. Tesis. Program Magister. Program

Studi Biologi. Program Pasca Sarjana. Universitas Udayana. Denpasar

profiles and antioxidant activities of legumes affected by extraction solvent. *Journal of Food Science*. Vol.72: 59-66

Xu, B.J. dan S.K.C Chang. 2007. A comparative study on phenolic